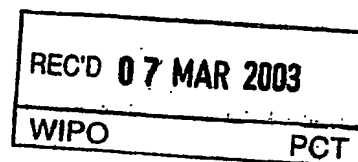


10/500162



Rec'd PCT/PTO 25 JUN 2004



#2

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 27 DEC. 2002

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)

Martine PLANCHE

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04
Télécopie : 33 (1) 42 93 59 30
www.inpi.fr

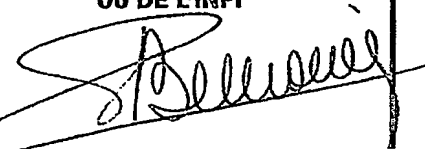
REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 1/2

Important Remplir impérativement la 2ème page.

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 W / 190600

| | | | |
|--|----------------------|--|---------------------------|
| REMISE DES PIÈCES DATE 28 DEC 2001 LIEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT 0116981 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI 28 DEC 2001 | | 1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE PONTET ALLANO & Associés Selarl 25 rue Jean Rostand Parc Club Orsay Université 91893 ORSAY Cedex | |
| Vos références pour ce dossier (facultatif) IFB01 MKT TMS | | | |
| Confirmation d'un dépôt par télécopie <input type="checkbox"/> | | N° attribué par l'INPI à la télécopie | |
| 2 NATURE DE LA DEMANDE | | Cochez l'une des 4 cases suivantes | |
| Demande de brevet | | <input checked="" type="checkbox"/> | |
| Demande de certificat d'utilité | | <input type="checkbox"/> | |
| Demande divisionnaire | | <input type="checkbox"/> | |
| Demande de brevet initiale ou demande de certificat d'utilité initiale | | N° | Date <input type="text"/> |
| | | N° | Date <input type="text"/> |
| Transformation d'une demande de brevet européen | | <input type="checkbox"/> | Date <input type="text"/> |
| Demande de brevet initiale | | N° | Date <input type="text"/> |
| 3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) "Appareillage de spectroscopie d'autofluorescence subsurfacique" | | | |
| 4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE | | Pays ou organisation <input type="text"/> N° <input type="text"/> Date <input type="text"/> Pays ou organisation <input type="text"/> N° <input type="text"/> Date <input type="text"/> Pays ou organisation <input type="text"/> N° <input type="text"/> Date <input type="text"/> <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite» | |
| 5 DEMANDEUR | | <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres demandeurs, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite» | |
| Nom ou dénomination sociale | | Mauna Kea Technologies | |
| Prénoms | | | |
| Forme juridique | | Société par actions simplifiée | |
| N° SIREN | | | |
| Code APE-NAF | | | |
| Adresse | Rue | 9 rue d'Enghien | |
| | Code postal et ville | 75010 | PARIS |
| Pays | | FRANCE | |
| Nationalité | | Française | |
| N° de téléphone (facultatif) | | | |
| N° de télécopie (facultatif) | | | |
| Adresse électronique (facultatif) | | | |

| | | | |
|---|----------------------|---|------------------|
| REMISE DES PIÈCES DATE 28 DEC 2001 LIEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT 0116981 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI | | Réservé à l'INPI | DB 540 W /199600 |
| Vos références pour ce dossier : <i>(facultatif)</i> | | IFB01 MKT TMS | |
| 6 MANDATAIRE | | | |
| Nom | | | |
| Prénom | | | |
| Cabinet ou Société | | PONTET ALLANO & Associés Selarl | |
| N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel | | | |
| Adresse | Rue | 25 rue Jean Rostand Parc Club Orsay Université | |
| | Code postal et ville | 91893 | ORSAY CEDEX |
| N° de téléphone <i>(facultatif)</i> | | 01 69 33 21 21 | |
| N° de télécopie <i>(facultatif)</i> | | 01 69 41 95 88 | |
| Adresse électronique <i>(facultatif)</i> | | | |
| 7 INVENTEUR (S) | | | |
| Les inventeurs sont les demandeurs | | <input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non Dans ce cas fournir une désignation d'inventeur(s) séparée | |
| 8 RAPPORT DE RECHERCHE | | Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation) | |
| Établissement immédiat ou établissement différé | | <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> | |
| Paiement échelonné de la redevance | | Paiement en deux versements, uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non | |
| 9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES | | Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention <i>(joindre un avis de non-imposition)</i> <input type="checkbox"/> Requête antérieurement à ce dépôt <i>(joindre une copie de la décision d'admission pour cette invention ou indiquer sa référence)</i> : | |
| Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes | | | |
| 10 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) Sylvain ALLANO CPI 96 03 03 | | VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI  | |

«Appareillage de spectroscopie d'autofluorescence subsurfacique»

La présente invention concerne un appareillage de spectroscopie d'autofluorescence subsurfacique. Plus particulièrement, l'appareillage selon
5 l'invention est du type utilisant un signal d'excitation véhiculé par une ou plusieurs fibres optiques souples.

Les domaines d'application de l'invention sont l'analyse spectroscopique de tissus biologiques in vivo sur l'homme ou l'animal, externes ou internes et accessibles à l'aide d'un canal opérateur
10 d'endoscope dans lequel on peut introduire les fibres optiques, et également l'analyse ex-vivo d'échantillons tissulaires provenant de prélèvements biopsiques, et l'analyse in-vitro de cultures en biologie cellulaire.

Actuellement sont visés les domaines médicaux de la gastro-entérologie, la pneumologie, la gynécologie, l'urologie, l'ORL, la
15 dermatologie, l'ophtalmologie, la cardiologie et de la neurologie.

Les tissus biologiques contiennent des fluorophores endogènes susceptibles, en réponse à une excitation lumineuse de longueur d'onde appropriée, d'émettre une fluorescence dans un domaine spectral allant de l'UV proche au visible, appelée autofluorescence. Cette dernière résulte du
20 recouvrement d'émissions de différents fluorophores, et dépend du métabolisme cellulaire, de la structure et de la vascularisation des tissus, qui varient suivant la nature saine ou tumorale des tissus. Il en résulte que la fluorescence des tissus sains et tumoraux présentent de fortes différences tant sur le plan de l'intensité émise que sur la forme du spectre.
25 L'analyse du spectre d'autofluorescence fournit des indicateurs permettant une "biopsie optique".

Dans les appareillages existants, l'illumination du site que l'on souhaite analyser de manière spectroscopique se fait couramment avec un faisceau d'excitation de fibres optiques qui est divergent, excitant un
30 volume, et la réception du signal de fluorescence s'effectue au moyen de fibres de détection adjacentes notamment périphériques. Cela entraîne une

mauvaise résolution, avec un mélange d'informations et une augmentation du nombre de faux positifs.

La présente invention a pour but de pallier ces inconvénients.

Il a été par ailleurs proposé des techniques d'imagerie confocale à
5 haute résolution spatiale destinées à observer un plan de coupe XY à différentes profondeurs du site observé, notamment exposée dans la demande de brevet WO 00/16151.

Ces techniques mettent en œuvre un faisceau ordonné de fibres optiques souples (notamment plusieurs dizaines de milliers) avec, côté observateur, une source lumineuse et un système d'injection de fibres
10 permettant d'illuminer une seule fibre et, côté site observé, une tête optique permettant de focaliser le faisceau sortant de la fibre illuminée en un point situé dans un plan de coupe XY, à une profondeur donnée du site observé. Un système de balayage de fibres permet de balayer les fibres une à une à
15 très grande vitesse. Chaque fibre est utilisée tour à tour pour véhiculer le faisceau d'illumination et également le faisceau de retour correspondant provenant du site observé. L'obtention d'une haute résolution spatiale est due au fait que l'on focalise le faisceau en un point et également au caractère confocal résidant dans le filtrage spatial du site observé par les
20 mêmes fibres que celles ayant servi à l'illumination. Cela permet de réceptionner exclusivement le signal provenant du site observé et de réaliser une image point par point.

La présente invention a pour but de proposer un appareillage qui permette une analyse spectroscopique également à haute résolution spatiale
25 et à une profondeur donnée du site observé.

Elle propose un appareillage d'analyse spectroscopique d'autofluorescence d'un tissu biologique comprenant une source d'excitation, un moyen d'injection d'un signal d'excitation produit par ladite source dans un faisceau ordonné de fibres optiques souples, un moyen
30 d'analyse d'un signal d'autofluorescence émis, caractérisé en ce qu'il comporte en sortie dudit faisceau de fibres optiques souples une tête

optique destinée à être placée au contact du tissu biologique, ladite-tête optique étant munie de moyens optiques adaptés à faire converger le signal d'excitation sortant dudit faisceau de fibres optiques souples en une zone d'analyse subsurfacique, la ou les mêmes fibres optiques dudit faisceau
5 ayant servi à l'excitation étant utilisées pour détecter le signal émis par ladite zone d'analyse subsurfacique, des moyens placés en amont du moyen d'injection étant en outre prévus pour séparer la longueur d'onde du signal d'excitation et la longueur d'onde du signal d'autofluorescence émis.

La présente invention est ainsi basée sur certains des moyens cités
10 plus haut pour réaliser une image confocale, à savoir véhiculer sur la ou les mêmes fibres le signal d'excitation et en retour le signal émis, et la mise en œuvre d'une tête optique focalisant le signal d'excitation en un point en profondeur. La focalisation combinée au caractère confocal (obtenu grâce au retour du signal d'autofluorescence par la ou les mêmes fibres optiques),
15 permet d'obtenir une haute résolution spatiale. L'avantage par rapport à une spectroscopie grand champ est que l'on peut réaliser une sélection spatiale très précise de la zone d'analyse et que l'on réduit ainsi beaucoup les risques d'erreurs et de faux positifs.

Les moyens optiques de la tête optique comprennent un système de
20 lentilles formant un objectif de focalisation adapté à transcrire la répartition spatiale de la tache focale en sortie du faisceau de fibres et la qualité du front d'onde et à minimiser la réflexion parasite s'opérant en sortie du faisceau de fibres.

Selon la présente invention, le nombre de fibres optiques du faisceau
25 peut varier entre une fibre unique et une pluralité de fibres (notamment plusieurs dizaines de milliers) pouvant être toutes excitées ou par sous-ensembles sélectionnés selon les dimensions de la zone d'excitation que l'on recherche.

La zone d'excitation selon l'invention se situe dans un plan XY
30 perpendiculaire à l'axe optique que l'on peut régler à différentes profondeurs, allant sensiblement de 50 à 400 μm . Sa dimension dépend du

diamètre de l'ensemble de fibres utilisé (appelé ci-après le diamètre utile du faisceau de fibres), et des caractéristiques optiques de focalisation de la tête optique.

La présente invention propose également un appareillage comportant
5 en outre des moyens permettant d'obtenir conjointement une image confocale du site d'analyse. Une telle possibilité de couplage permet d'augmenter avantageusement le degré de certitude d'un diagnostic. Grâce à l'invention, on pourra obtenir simultanément et en temps réel, sur un point focalisé en profondeur, des informations :

- 10 - de type histologique par imagerie confocale ; et
 - de type spectroscopique renseignant sur la nature du site observé.

Elle propose un appareillage tel que défini ci-dessus, le faisceau de fibres comportant une pluralité de fibres optiques, caractérisé en ce qu'il comporte en outre des moyens pour réaliser conjointement une image
15 confocale de la zone d'analyse, comprenant :

- une source d'illumination,
- un détecteur du signal de retour pour analyse,
- un moyen de séparation du signal d'illumination et dudit signal de retour,
- 20 - des moyens pour coupler le signal d'excitation pour l'analyse spectroscopique et le signal d'illumination pour l'imagerie confocale, avant l'entrée dans le moyen d'injection dans le faisceau de fibres optiques,
- un moyen de balayage rapide des fibres une à une situé en amont
25 du moyen d'injection dans le faisceau de fibres, et
- un système de filtrage spatial à l'entrée du détecteur de signal adapté à sélectionner le signal de retour provenant de la fibre illuminée,

le moyen d'injection dans le faisceau de fibres présentant une
30 répartition spatiale de l'intensité de la tache focale égale au diamètre de

cœur d'une fibre, chaque fibre étant illuminée tour à tour et de manière adressée.

5 Selon l'invention, la voie tomographique et la voie spectroscopique utilisent avantageusement en commun le moyen d'injection dans le faisceau de fibres, le faisceau de fibres lui-même et la tête optique de focalisation. Pour l'acquisition d'une image, les fibres sont illuminées une à une. Pour l'acquisition d'un spectre d'autofluorescence, les fibres peuvent être excitées toutes ou par sous-groupes, en fonction des dimensions de la zone d'analyse.

10 L'utilisation d'un faisceau de fibres optiques souples peut être avantageuse pour un système de tests automatiques dans lequel avantageusement le faisceau de fibres, avec à son extrémité la tête optique, est manipulé de manière automatisée comme un bras de mesure sur une matrice d'échantillons.

15 La présente invention sera mieux comprise et d'autres avantages apparaîtront à la lumière de la description qui va suivre de deux exemples de réalisation, description faite en référence aux dessins sur lesquels :

- la figure 1 illustre schématiquement un premier exemple de réalisation d'appareillage de spectroscopie selon l'invention ; et

20 - la figure 2 illustre schématiquement un deuxième exemple de réalisation d'appareillage comprenant un couplage analyse spectroscopique et imagerie confocale.

Selon l'exemple de réalisation choisi et représenté sur la figure 1, il est proposé un appareillage pour réaliser une analyse spectroscopique subsurfacique à une profondeur donnée, comportant une source 1 produisant un signal d'excitation, un moyen d'injection 2 dudit signal dans un faisceau 3 ordonné de fibres optiques au bout duquel est ménagé une tête optique 4 adaptée à modifier le signal d'excitation sortant dudit faisceau de fibres optiques 3 pour créer un faisceau convergent focalisé sur
25
30 une zone 5 sous-jacente de la zone de contact 6 avec la tête optique 4.

La source 1 utilisée est choisie pour permettre une excitation des fluorophores endogènes présents dans les tissus biologiques du site observé, notamment dans une plage de longueur d'onde de 300-500 nm. Typiquement on peut utiliser une diode laser à 405 ± 10 nm. D'autres sources telles que les lasers solides ou lasers à gaz avec ou non générateurs d'harmoniques peuvent également convenir avec d'autres longueurs d'ondes afin d'exciter d'autres fluorophores endogènes.

L'appareillage comporte un moyen d'adaptation 8 de faisceau émis par la source 1 comprenant ici une lentille L1 qui est correctement couplée au moyen d'injection 2 dans le faisceau 3 de fibres optiques. La combinaison optique permet d'adapter la taille du faisceau laser au diamètre utile dudit faisceau de fibres optiques 3, correspondant à l'ensemble ou à un sous-ensemble de fibres effectivement utilisées. Elle permet en outre ici d'agrandir le diamètre de la tache de focalisation à l'entrée du faisceau 3 de fibres et par conséquent d'agrandir la taille de la tache formée sur le tissu. Cela permet de réduire l'irradiance (c'est à dire la quantité de puissance par unité de surface) sur le tissu, et ainsi de respecter les normes d'éclairement des tissus biologiques.

L'appareillage comporte également un moyen adapté à séparer deux longueurs d'onde, la longueur d'onde d'excitation et le signal d'autofluorescence émis. Une lame dichroïque D est utilisée ici à cet effet réalisant une transmission maximale à la longueur d'onde d'illumination et une réflexion maximale dans le domaine spectral de fluorescence.

Le signal à la longueur d'onde d'excitation est dirigé en sortie de la lame D vers le moyen optique d'injection 2 dans le faisceau de fibres 3. Ce moyen doit présenter le minimum d'aberrations et ne doit pas dégrader la qualité du front d'onde afin de réaliser une tache de focalisation proche de la limite de diffraction pour ainsi réaliser un couplage optimal avec le faisceau de fibres 3. Le moyen choisi ici est constitué d'un doublet sur mesure L3 et d'un triplet standard L4. Le doublet L3 permet de corriger les aberrations résiduelles du triplet L4, à savoir la courbure de champ. Toute

autre combinaison optique présentant une qualité de front d'onde WFE ("Wave Front Error") de l'ordre de $\lambda/8$ et une répartition spatiale de l'intensité de la tache focale PSF ("Point Spread Function") égale au diamètre utile du faisceau de fibres 3 peut convenir.

- 5 Le faisceau de fibres 3 permet d'accéder à la zone d'analyse en déportant la source 1. Pour une application endoscopique, il doit présenter un diamètre et un rayon de courbure permettant une insertion aisée dans le canal opérateur de l'endoscope, qui est de quelques millimètres de diamètre suivant l'application clinique (entre 2 mm et 4 mm). On peut utiliser un
- 10 faisceau constitué d'une fibre optique souple unique ou bien d'une pluralité de fibres. En pratique, le diamètre utile peut être choisi en fonction de la tache de focalisation de la tête optique, par exemple pour qu'elle soit de l'ordre de plusieurs centaines de microns dans lesquels on sait que la nature du tissu biologique observé ne diffère pas d'une cellule à une autre.

- 15 En sortie du faisceau de fibres 3, le signal d'excitation traverse la tête optique 4. Celle-ci comprend plusieurs moyens optiques, permettant de faire converger le signal d'excitation, et deux lames de verre (non représentés sur les figures), l'une en commun avec la sortie du faisceau de fibres 3 et l'autre en contact avec le tissu afin de réaliser une adaptation d'indice avec
- 20 les tissus biologiques.

Les moyens optiques présentent les caractéristiques suivantes :

- permettre une analyse du tissu à une profondeur de plusieurs dizaines à plusieurs centaines de microns ;
- minimisation des aberrations afin de transcrire la PSF en sortie du faisceau
- 25 de fibres sur le tissu sans élargir celle-ci ou la déformer ;
- optimisation du taux de couplage en retour dans le faisceau de fibres en optimisant la qualité du front d'onde ;
- minimisation de la réflexion parasite s'opérant en sortie du faisceau de fibres par l'intégration d'une lame de verre.

De plus, s'il s'agit d'une tête optique destinée à un endoscope, ses dimensions doivent être compatibles avec celle du canal opérateur de l'endoscope.

Le bloc optique de focalisation est constitué d'un système de lentilles
5 à grandissement unitaire ou non,, formant un objectif sur-mesure ou un système comprenant par exemple deux objectifs de microscopes.

Selon l'invention, la ou les fibres du faisceau 3 ont pour fonction également de détecter le signal émis par la zone 5 subsurfacique. En sortie du faisceau de fibres 3, le signal détecté est, comme on l'a vu réfléchi par
10 la lame dichroïque D et dirigé vers la fente 21 d'un spectrographe 20. Le couplage du signal de fluorescence à la fente 21 du spectrographe est réalisé grâce à un doublet achromatique. En variante, on peut utiliser toute autre optique achromatique, l'analyse du signal de fluorescence s'effectuant sur un large domaine spectral (350nm-650nm). Un filtre passe-haut 22
15 permet ainsi de supprimer la longueur d'onde d'excitation (la lumière rétrodiffusée par le tissu à la même longueur d'onde que la longueur d'onde d'excitation est en effet beaucoup plus importante que la lumière d'autofluorescence des tissus qui se produit à des longueurs d'onde plus grandes). Par conséquent, afin de ne pas saturer le détecteur, on bloque la
20 lumière rétrodiffusée par le filtre passe-haut et une lentille L2, placée en amont du filtre passe-haut 22, permet d'améliorer le rapport signal à bruit en augmentant le signal détecté par l'adaptation du faisceau de retour aux dimensions de la fente 21.

Le spectrographe 20 est choisi de manière à présenter une grande
25 ouverture numérique, un refroidissement par effet Peltier, un faible bruit afin d'augmenter le rapport signal à bruit, ainsi qu'une bonne résolution spectrale (de l'ordre de 3 nm). Des moyens de visualisation de spectre et d'analyse et de traitement sont en outre prévus.

A la figure 2, est représenté schématiquement l'appareillage de la
30 figure 1 auquel on a couplé avantageusement un système d'imagerie confocale. L'appareillage comprend donc une voie spectroscopique qui

correspond à celle décrite en référence à la figure 1 (les mêmes références sont utilisées) et une voie supplémentaire tomographique permettant de réaliser conjointement une image confocale du site d'analyse. Les deux voies utilisent avantageusement en commun le faisceau de fibres optiques 3 et la tête optique 4, ainsi que le moyen d'injection 2 dans ledit faisceau de fibres 3.

De manière spécifique, pour obtenir une image confocale point par point, l'appareillage utilise ici un faisceau 3 comprenant plusieurs fibres optiques qui sont illuminées une à une et tour à tour de manière adressée.

10 On peut utiliser tout faisceau présentant suffisamment de fibres et un faible espacement inter-cœur afin d'obtenir une bonne résolution spatiale. A titre d'exemple, on peut utiliser un toron de fibres optiques de marque Sumitomo® constitué de 30 000 fibres de diamètre de cœur de $2,5 \mu\text{m}$ et d'espacement inter-cœur de $4 \mu\text{m}$, ou bien un toron de marque Fujikura®

15 constitué de 30 000 fibres de diamètre de cœur de $2 \mu\text{m}$ et d'espacement inter-cœur de $3,7 \mu\text{m}$. De tels faisceaux de fibres sont compatibles avec une application endoscopique. Pour la voie spectroscopique, l'acquisition du spectre avec de tels faisceaux de fibres se fera sur la totalité des fibres du faisceau qui correspond à une zone d'analyse de plusieurs centaines de

20 microns dans laquelle la nature du tissu ne diffère pas d'une cellule à une autre.

Egalement de manière spécifique, la tête optique est adaptée à une imagerie confocale fibre à fibre permettant d'obtenir une zone d'analyse 5 focalisée de l'ordre de 0,5 mm de diamètre dans un plan d'analyse en coupe XY.

25

En amont du faisceau de fibres 3, la voie tomographique comporte une source 30 constituée d'une diode laser à 683 nm et présentant une très bonne qualité de front d'onde. Cette diode est pulsée afin de dissocier par détection synchrone le signal utile de la réflexion parasite qui s'opère à

30 l'entrée du faisceau de fibres 3. On pourrait aussi utiliser un laser solide ou à gaz, mais le choix en longueur d'onde dans la bande 600-800 nm où

l'absorption dans les tissus est moindre, est moins étendu ; de plus, le coût à puissance équivalente est bien plus important.

Pour séparer le signal d'illumination et le signal retour d'analyse, on utilise un moyen de séparation constitué ici d'un cube séparateur 31 50/50
5 pour des commodités de réglage. On peut aussi utiliser une lame séparatrice 50/50.

L'appareillage comporte un système de balayage 32 dont le but est de reproduire une matrice de diodes de même qualité optique que la diode laser de la source et que l'on injectera fibre à fibre. Ceci nécessite une
10 combinaison de moyens optiques non standards permettant de corriger les aberrations présentes dans le système de transport et de duplication de source afin d'éclairer le faisceau 3 fibre par fibre. Cette technique d'imagerie point à point (chaque point correspondant à l'illumination d'une fibre) permet d'obtenir une image confocale de très bonne qualité et à une
15 cadence d'image appropriée (15 images/s).

Le système de balayage est constitué de deux miroirs M1 et M2, l'un est un miroir résonant à une fréquence de 4 kHz ou 8 kHz, l'autre un miroir galvanométrique avec une fréquence variable entre 0 et 300 Hz, et de deux systèmes optiques chacun constitué de quatre lentilles, respectivement L5,
20 L6, L7 et L8, et L9, L10, L11 et 12 permettant de conjuguer les deux miroirs dans un premier temps, puis le miroir M2 et l'entrée du faisceau de fibres 3. Ces systèmes optiques ne doivent pas présenter d'aberrations qui pourraient :

- élargir la PSF après le système d'injection et ainsi dégrader le couplage
25 dans le faisceau de fibres 3 ;
- faire propager du flux dans la gaine qui dégraderait la PSF en bout du faisceau de fibres 3 et de ce fait la résolution de l'appareillage.

A la différence de l'appareillage de la figure 1, le moyen d'injection 2 dans le faisceau de fibres 3 doit présenter ici une PSF égale au diamètre de
30 cœur d'une fibre afin de pouvoir réaliser un couplage optimal avec une seule fibre.

Les lentilles L6-L7 et L10-L11 du système de balayage 32 sont deux doublets correcteurs identiques placés symétriquement par rapport au plan image. Ils permettent, avec le doublet L3 du système d'injection 2 d'obtenir une image de très bonne qualité en éliminant les aberrations résiduelles de la combinaison optique L5 , L8, L9, L12 et L4, et d'uniformiser le taux de couplage dans le faisceau de fibres 3 en supprimant la courbure de champ. Elles permettent également de ce fait d'améliorer la résolution spatiale de l'appareillage en formant une tache dont la PSF est égale au diamètre de cœur des fibres, ce qui n'entraîne pas de propagation de lumière dans la gaine du faisceau de fibres 3 et donc une PSF en sortie dudit faisceau 3 identique à celle d'entrée.

L'appareillage comporte un système de filtrage spatial constitué d'une lentille L13 et d'un trou de filtrage 33 permettant de ne sélectionner que la fibre d'illumination et non les fibres adjacentes qui peuvent générer un signal parasite. La taille du trou de filtrage est telle qu'elle correspond au diamètre de cœur d'une fibre au grandissement près du système optique entre l'entrée du faisceau de fibres 3 et le trou de filtrage 33.

Le faisceau de fibres 3 est équipé à ces deux extrémités d'une lame de verre suffisamment épaisse et d'indice proche de celui des fibres afin de rejeter les réflexions parasites en dehors du trou de filtrage placé devant le détecteur pour la réflexion qui s'opère à l'entrée du faisceau de fibres 3, et en dehors des fibres optiques illuminées pour la réflexion qui s'opère en sortie du faisceau de fibres 3. Les lames de verre sont traitées anti-reflet afin de minimiser la lumière réfléchie.

Comme détecteur de signal 35 on utilise une photodiode à avalanche qui acquiert le signal en continu, ce qui nécessite de ramener le signal parasite provenant des deux extrémités du faisceau de fibres 3 au même ordre de grandeur que le signal utile afin de ne pas saturer le détecteur. La suppression du résidu de réflexion parasite à l'entrée du faisceau de fibres 3 est alors effectuée par un filtrage temporel numérique. Tout autre photodétecteur monopixel tel que le photomultiplicateur peut être utilisé,

l'avantage de la photodiode à avalanche étant son rendement quantique de détection plus élevé que celui des autres détecteurs.

5 Afin de procéder au couplage des deux voies imagerie confocale/spectroscopie qui s'effectue avec deux sources de longueurs d'onde différentes, une lame dichroïque D2 réfléchissant le rouge et transmettant le bleu et le vert est utilisée. Le couplage pourrait aussi être réalisé en transmission dans le rouge et en réflexion dans le bleu et le vert, mais il présente des taux de réflexion et transmission moins optimales dans ce sens.

10 En fonctionnement, l'acquisition d'un spectre peut se faire simultanément à l'acquisition d'une image tomographique. L'appareillage comporte des moyens d'analyse et de traitement qui permettent à partir des signaux détectés par le détecteur de signal 35 de recréer une image numérique.

15 La résolution spatiale que l'on peut obtenir est de l'ordre de $5\mu\text{m}$. Elle permet notamment le diagnostic de lésions pré-cancéreuses basé sur la taille, la forme et la densité des noyaux observés.

Revendications

1. Appareillage d'analyse spectroscopique d'autofluorescence d'un tissu biologique comprenant une source d'excitation (1), un moyen
5 d'injection (2) d'un signal d'excitation produit par ladite source dans un faisceau ordonné (3) de fibres optiques souples, un moyen d'analyse (21,22) d'un signal d'autofluorescence émis, caractérisé en ce qu'il comporte en sortie du faisceau (3) de fibres optiques une tête optique (4) destinée à être placée au contact du tissu biologique (6), ladite tête optique
10 étant munie de moyens optiques adaptés à faire converger le signal d'excitation sortant dudit faisceau (3) en une zone d'analyse subsurfacique (5), la ou les mêmes fibres optiques ayant servi à l'excitation dudit faisceau (3) étant utilisées pour détecter le signal émis par ladite zone d'analyse subsurfacique, des moyens (D) placés en amont du moyen d'injection (2)
15 étant en outre prévus pour séparer la longueur d'onde du signal d'excitation et la longueur d'onde du signal d'autofluorescence.

2. Appareillage selon la revendication 1, caractérisé en ce que les moyens optiques de la tête optique (4) comprennent un système de lentilles
20 formant un objectif de focalisation adapté à transcrire la répartition spatiale de la tache focale (PSF) en sortie du faisceau de fibres et la qualité du front d'onde (WFE) et à minimiser la réflexion parasite s'opérant en sortie du faisceau de fibres.

25 3. Appareillage selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que la tête optique (4) comprend une lame de verre destinée à venir en contact du tissu biologique à analyser et adaptée à réaliser une adaptation d'indice avec ledit tissu.

30 4. Appareillage selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comporte une lame de verre placée en

sortie du faisceau (3) de fibres optiques et commune avec la tête optique (4), ladite lame étant suffisamment épaisse pour rejeter les réflexions parallèles parasites en sortie dudit faisceau de fibres (3).

5 5. Appareillage selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le moyen d'injection (2) dans le faisceau (3) de fibres optiques présente une qualité de front d'onde et une répartition spatiale de l'intensité de la tache focale adaptée au diamètre utile du faisceau de fibres (3).

10

6. Appareillage selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la source d'excitation (1) émet à une longueur d'onde adaptée à exciter des fluorophores endogènes choisis présents dans les tissus biologiques du site observé.

15

7. Appareillage selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le moyen pour séparer les longueurs d'onde est une lame dichroïque (D).

20

8. Appareillage selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le moyen d'analyse spectroscopique comprend un spectrographe (20) et un moyen de couplage (21) à la fente du spectrographe.

25

9. Appareillage selon la revendication 8, caractérisé en ce que le moyen de couplage (21) à la fente du spectrographe comprend un moyen optique achromatique.

10. Appareillage selon la revendication 8 ou 9, caractérisé par un
30 moyen de réjection (22) placé en amont du moyen de couplage (21) et adapté à supprimer la longueur d'onde d'excitation rétroémise.

11. Appareillage selon la revendication 10, caractérisé par une lentille (L2) placée en amont du moyen de réjection (22) adaptée à améliorer le rapport signal à bruit.

5 12. Appareillage selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comporte un moyen d'adaptation (L1) de la taille du faisceau émis par la source d'excitation (1) au diamètre utile du faisceau de fibres optiques (3).

10 13. Appareillage selon l'une quelconque des revendications précédentes, le faisceau de fibres (3) comportant une pluralité de fibres optiques, caractérisé en ce qu'il comporte en outre des moyens pour réaliser conjointement une image confocale de la zone d'analyse (5), comprenant :

- 15 - une source d'illumination (30),
- un détecteur (35) du signal de retour pour analyse,
- un moyen de séparation (31) du signal d'illumination et dudit signal de retour,
- des moyens pour coupler (D2) le faisceau d'excitation pour
- 20 l'analyse spectroscopique et le faisceau d'illumination pour l'imagerie confocale, avant l'entrée dans le moyen d'injection (2) dans le faisceau de fibres optiques (3),
- un moyen (32) de balayage rapide des fibres une à une situé en amont du moyen d'injection dans le faisceau de fibres (3), et
- 25 - un système de filtrage (33) spatial à l'entrée du détecteur (35) de signal adapté à sélectionner le signal de retour provenant de la fibre illuminée,

 le moyen d'injection (2) dans le faisceau de fibres (3) présentant une répartition spatiale de l'intensité de la tache focale égale au diamètre de

30 cœur d'une fibre, chaque fibre étant illuminée tour à tour et de manière adressée.

14. Appareillage selon la revendication 13, caractérisé en ce que la source d'illumination (30) est une diode laser pulsée.

5 15. Appareillage selon la revendication 13 ou 14, caractérisé en ce que la source d'illumination présente une qualité de front d'onde de l'ordre de $\lambda/8$.

10 16. Appareillage selon la revendication 15 ou 16, caractérisé en ce que le détecteur (35) du signal de retour est une photodiode à avalanche.

15 17. Appareillage selon l'une quelconque des revendications 15 à 17, caractérisé en ce que les moyens (31) pour coupler, avant l'entrée dans le moyen d'injection dans le faisceau de fibres (3), le signal d'excitation pour l'analyse spectroscopique et le signal d'illumination pour l'imagerie confocale, comprennent une lame dichroïque (D2).

20 18. Appareillage selon l'une quelconque des revendications 15 à 18, caractérisé en ce que le moyen (32) de balayage rapide des fibres une à une comprend un miroir résonant (M1) à une fréquence donnée et un miroir galvanométrique (M2) avec une fréquence variable, et deux systèmes optiques chacun constitué de lentilles (L5-8, L9-12) adaptées à conjuguer les deux miroirs (M1, M2) dans un premier temps puis le miroir galvanométrique (M2) et l'entrée du faisceau de fibres (3) dans un deuxième temps.

25 19. Appareillage selon l'une quelconque des revendications 15 à 19, caractérisé en ce que le système de filtrage spatial comprend un trou de filtrage (33) dont la taille est telle qu'elle correspond au diamètre de cœur d'une fibre au grandissement près du système optique entre l'entrée du
30 faisceau de fibres (3) et le trou de filtrage (33).

1/21

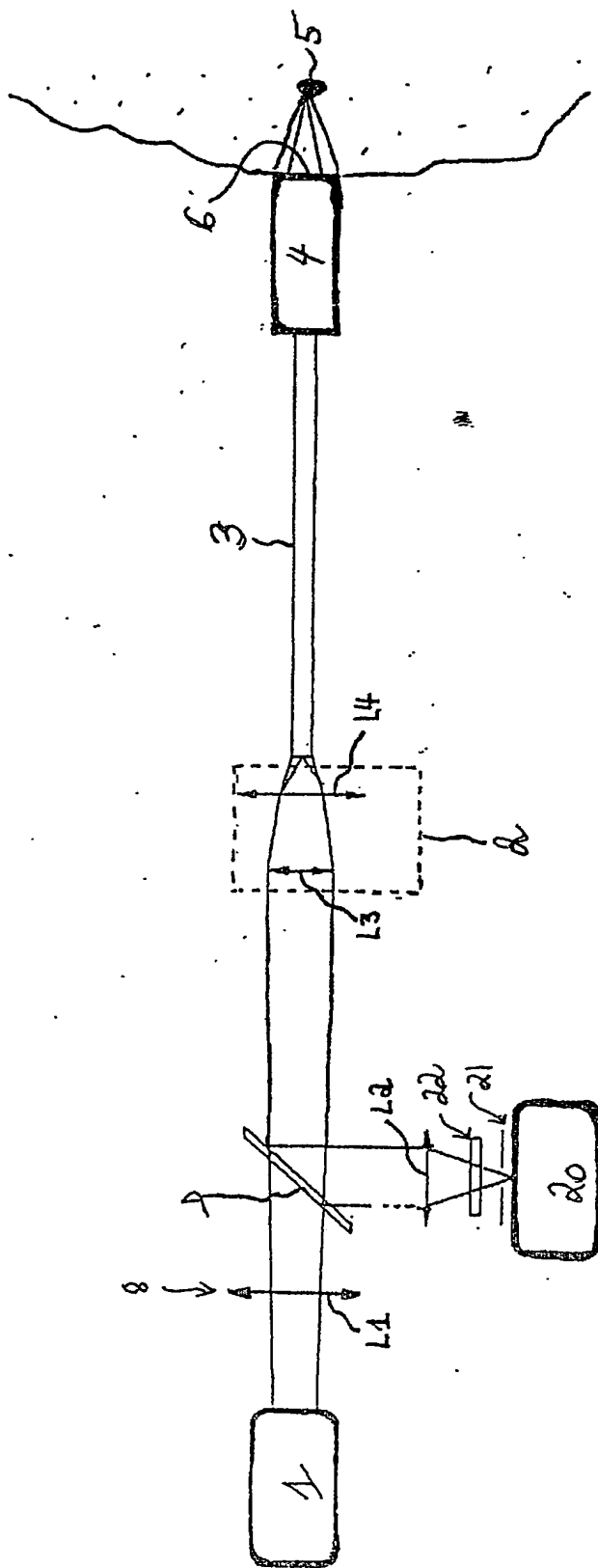


FIG 1

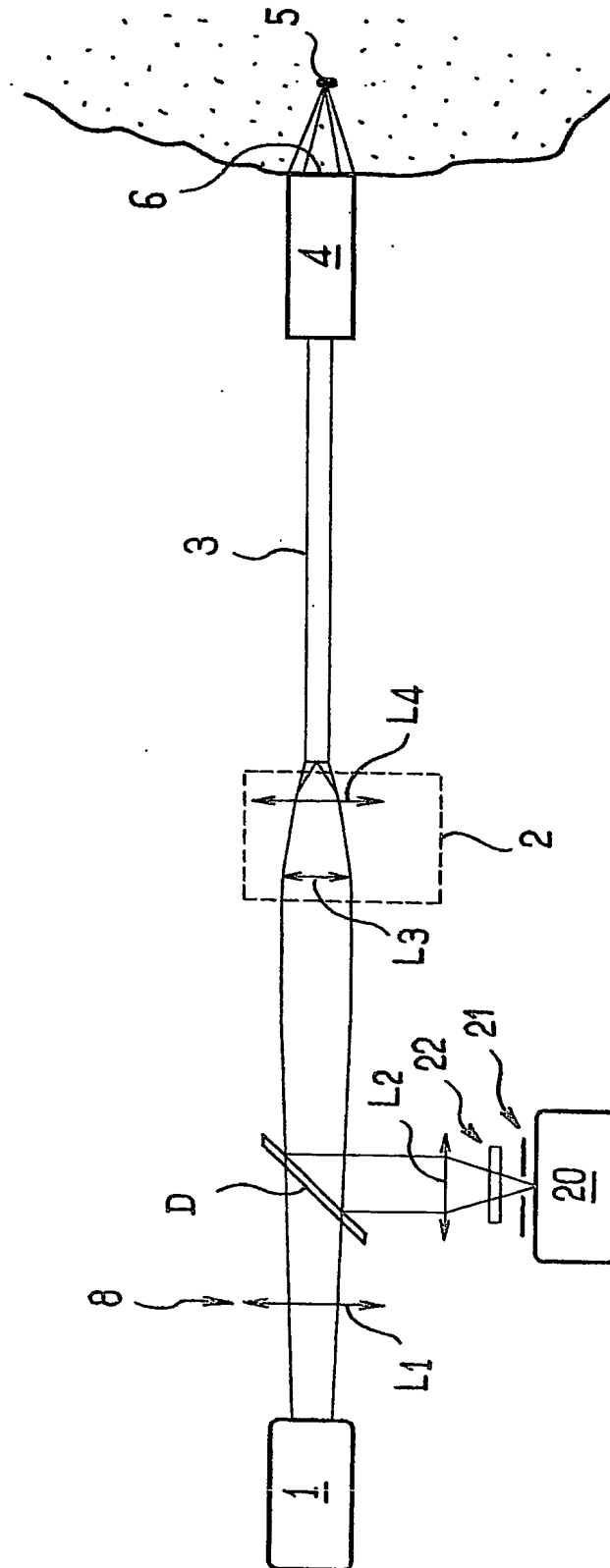


FIG. 1

2/21

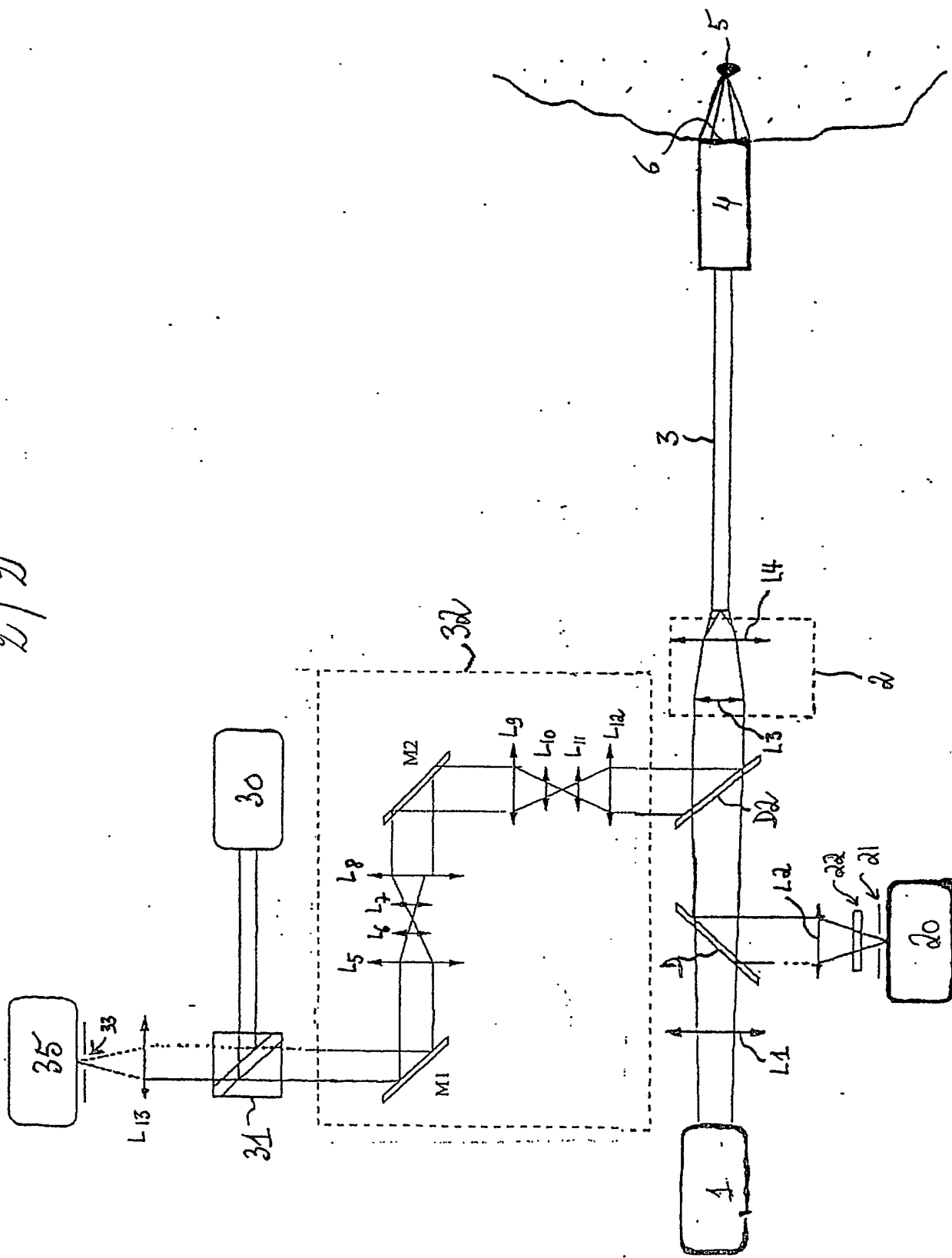


FIG 2

BEST AVAILABLE COPY

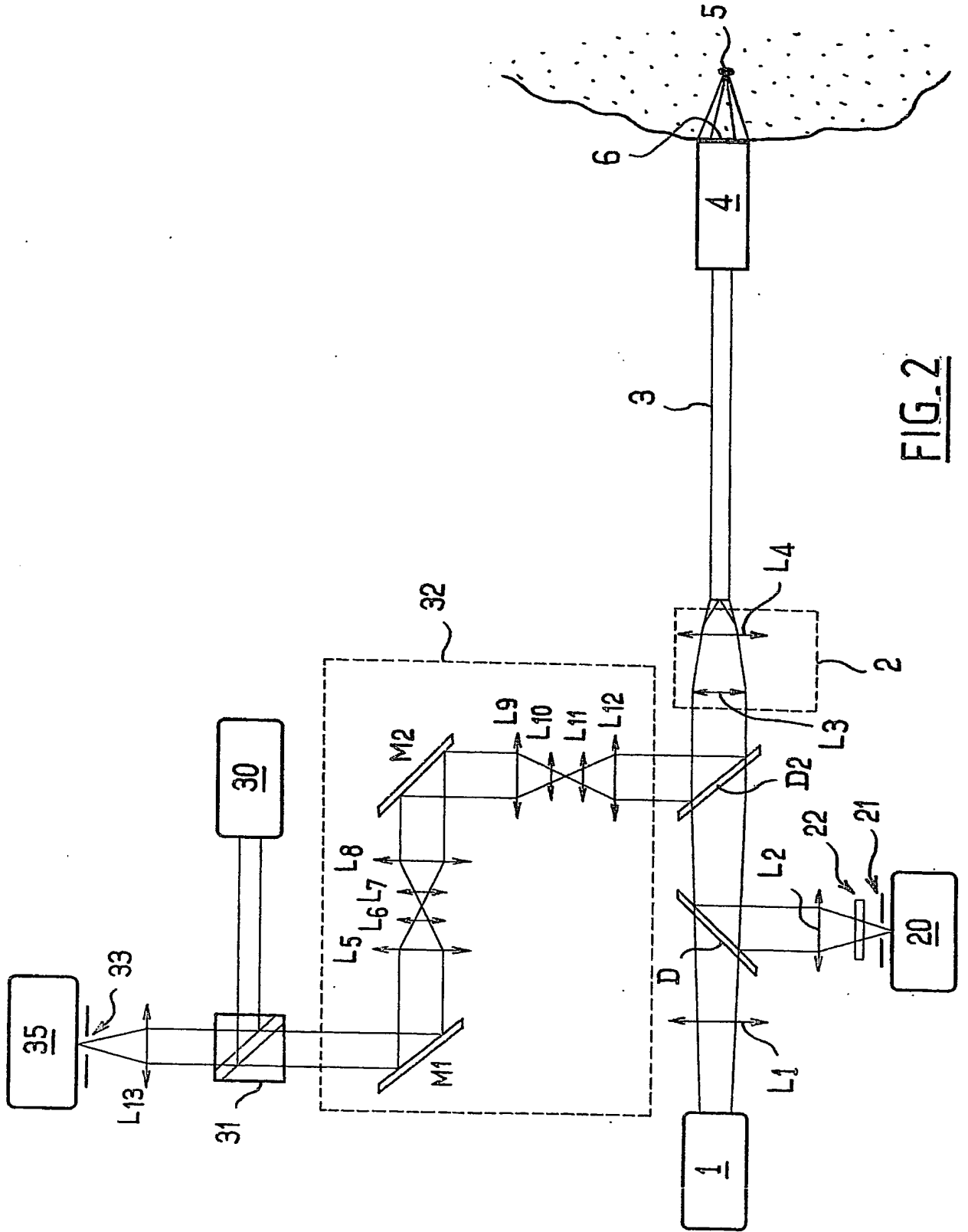


FIG. 2

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11235*02



DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg

75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1.. / 2..

(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

08 113 W / 260899

| | | | |
|---|----------------------|----------------------------|-------|
| Vos références pour ce dossier (facultatif) | | IFB01 MKT TMS | |
| N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL | | 0.216981 | |
| TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) "Appareillage de spectroscopie d'autofluorescence subsurfacique" | | | |
| LE(S) DEMANDEUR(S) : MAUNA KEA TECHNOLOGIES Société par actions simplifiée 9 rue d'Enghien 75010 PARIS FRANCE | | | |
| DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages). | | | |
| Nom | | GENET | |
| Prénoms | | Magalie | |
| Adresse | Rue | 74, cours de Vincennes | |
| | Code postal et ville | 75012 | PARIS |
| Société d'appartenance (facultatif) | | | |
| Nom | | BOURG-HECKLY | |
| Prénoms | | Geneviève | |
| Adresse | Rue | 5, rue Elzévir | |
| | Code postal et ville | 75003 | PARIS |
| Société d'appartenance (facultatif) | | | |
| Nom | | VILETTE | |
| Prénoms | | Sandrine | |
| Adresse | Rue | 28, rue Des Terres Au Cure | |
| | Code postal et ville | 75013 | PARIS |
| Société d'appartenance (facultatif) | | | |
| DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) | | | |
| Sylvain ALLANO CPI 96 03 03 | | | |

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire.
Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 2. / 2.

(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 260599

| | | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|----------|
| Vos références pour ce dossier (facultatif) | | IFB01 MKT TMS | |
| N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL | | 0116981 | |
| TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) "Appareillage de spectroscopie d'autofluorescence subsurfacique" | | | |
| LE(S) DEMANDEUR(S) : MAUNA KEA TECHNOLOGIES Société par actions simplifiée 9 rue d'Enghien 75010 PARIS FRANCE | | | |
| DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages). | | | |
| Nom | | LACOMBE | |
| Prénoms | | François | |
| Adresse | Rue | 2173, avenue Roger Salengro | |
| | Code postal et ville | 92370 | CHAVILLE |
| Société d'appartenance (facultatif) | | | |
| Nom | | LOISEAU | |
| Prénoms | | Alexandre | |
| Adresse | Rue | 1, rue du Gros Caillou | |
| | Code postal et ville | 75007 | PARIS |
| Société d'appartenance (facultatif) | | | |
| Nom | | ABRAT | |
| Prénoms | | Benjamin | |
| Adresse | Rue | 18, rue Pierre Guérin | |
| | Code postal et ville | 75016 | PARIS |
| Société d'appartenance (facultatif) | | | |
| DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) | | | |
| Sylvain ALLANO CPI 96-03-03 | | | |